[Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.]

Ueber Safraninvergiftung.

Von

Th. Weyl.

Das Safranin auf Giftigkeit zu prüfen, bot nachfolgender Fall Veranlassung.

In Nr. 186 des Berliner Tageblatt vom 12. April 1888, auf welche ich von befreundeter Seite aufmerksam gemacht wurde, wird mitgetheilt, dass eine Dame, einige Stunden nachdem sie eine neue Tricottaille zum ersten Male angelegt hatte, ein eigenthümliches Jucken der (Rücken-)Haut empfand. Abends waren Hals, Schultern und Arme mit einem „förmlichen Hautausschlag“ bedeckt. Wie ich dann weiterhin durch Herrn Dr. Lassar¹ erfuhr, erfolgte die Wiederherstellung der Patientin erst nach mehreren Monaten.¹ Durch das Entgegenkommen der Patientin habe ich jene verdächtige Taille untersuchen können.

Das Kleidungsstück bestand aus einem roth und braungelb gestreiften Tricotstoffe. Der aufrechtstehende Kragen und die Manschetten waren an ihrer inneren Seite mit einem rothen seidenartigen Stoff (Satin) gefüttert.

Mit welcher Farbe der Tricotstoff gefärbt war, habe ich nicht mit Sicherheit feststellen können.

Es lag zunächst nahe, die *Materia peccans* in einem Arsengehalt des Tricotstoffes zu suchen.

Allein die Prüfung auf Arsen² ergab nur so geringfügige Spuren dieses Körpers, wie man sie wohl stets bei Untersuchung genügender Gewebsmengen finden wird.

¹ Hrn. Collegen Lassar ist es übrigens zweifelhaft geblieben, ob jene Hautaffection durch das Tragen der Tricottaille hervorgerufen wurde.

² Diese Prüfung wurde auf zweierlei Weisen vorgenommen:

a) In dem nach Zerstörung der organischen Substanzen durch chloresaures Kali und Salzsäure erhaltenen Rückstände. Derselbe wurde in ca. 500^{ccm} Wasser gelöst.

Ebenso wenig brachte eine Aschenuntersuchung des Taillenstoffes die Entscheidung.

5^{grm} Taillenstoff lieferten $0.1542 = 3.08$ Procent Asche. Die Asche war fast weiss gefärbt. Sie löste sich fast vollkommen in verdünnter Salzsäure ohne Kohlensäureentwicklung. Eine geringe Menge Kieselsäure wurde durch Filtration entfernt und in das genügend verdünnte Filtrat unter Erwärmen Schwefelwasserstoff eingeleitet. Es entstand ein kaum wägbarer gelbbrauner Niederschlag. Dieser löste sich nach dem Auswaschen in Schwefelammon völlig auf. Die hierbei erhaltene Lösung liess beim Zusatz von Salzsäure einen bräunlich gefärbten Niederschlag fallen, welcher mit Soda und Salpeter geschmolzen wurde. Die Schmelze löste sich in Wasser vollkommen auf. Die Lösung wurde in zwei Theile getheilt. a) Bei der Ueberschichtung mit Silbernitrat entstand an der Berührungsfläche nach einem halben Tage ein gelblicher Ring, welcher nur einem sehr farbensinnigen Auge bemerkbar war. b) Auf Zusatz von ammoniakalischer Magnesialösung wurden auch nach dreitägigem Stehen krystallinische Ausscheidungen nicht beobachtet. — Das Filtrat an dem durch H_2S erzeugten Niederschlage wurde gekocht und, als der Geruch nach Schwefelwasserstoff verschwunden war, mit Salpetersäure oxydirt. Auf Zusatz von Ammoniak entstand kein Niederschlag, wohl aber durch Schwefelammon. Der grünliche Niederschlag wurde abfiltrirt, ausgewaschen und durch warme verdünnte Salzsäure leicht gelöst. Die Lösung wurde eingedampft, mit Salpetersäure oxydirt und nach weiterem Eindampfen mit Natronlauge gekocht. Im Filtrate liessen sich Zink- und Thonerde, im Niederschlage — nach bekannten Methoden — viel Eisen, wenig Chrom nachweisen. Im Filtrate des durch Schwefelammon erhaltenen Niederschlages fand sich Kalk in sehr geringer Menge. Auf Alkalien wurde nicht geprüft.

Es blieb nur noch die bacterioskopische Untersuchung übrig.

Zu diesem Zwecke brachte ich kleine Fetzen des Taillenstoffes in Gelatine und stellte mir Esmarch'sche Rollröhrchen her. Erst nach acht Tagen hatten sich Colonieen in sehr geringer Zahl entwickelt.

Nach 48stündigem Einleiten von Schwefelwasserstoff in die erwärmte Lösung schieden sich nur wenige unwägbare Flocken eines verdächtigen Niederschlages ab. Für diesen Versuch dienten 10^{grm} Taillenstoff.

b) Nach der durch Verordnung des Reichskanzlers vom 10. April 1888 für die Untersuchung auf Arsen (und Zinn) vorgeschriebenen Methode. (Siehe Th. Weyl, *Theerfarben*, S. 24.)

Auch dieser Versuch wurde mit 10^{grm} Stoff angestellt und ergab nur unwägbare Mengen von Arsen. Eine Wiederholung der Untersuchung bestätigte dieses Resultat.

Unter diesen fanden sich eine orange Sarcine, *Bacillus subtilis*¹ und ein grosser *Micrococcus*. Erst sehr spät tauchte auch *Penicellium glaucum* auf. Diese Organismen bildeten sich auf allen drei Verdünnungen, sind also im Taillenstoff enthalten gewesen. Die gleichen Resultate erhielt ich, als ich kleine Theilchen der Taille auf schräg erstarrtem Agar in den Brutschrank brachte.

Die ausgewachsenen Keime waren wenig zahlreich und entsprachen denen, welche man auf „Luftplatten“ antrifft. Sie können also für die Hautaffection, an welchen die Besitzerin der Taille erkrankte, kaum verantwortlich gemacht werden.

Es war aber noch nicht von dem rothgefärbten Stoff die Rede, der, wie oben angegeben, als Futter für Kragen und Manschetten diente. Derselbe war mit Safranin gefärbt, wie die folgenden Reactionen beweisen.

Schon beim Abspülen in kaltem Wasser liess der Stoff einen grossen Theil seiner rothen Farbe los. Die roth gefärbte Lösung ergab folgende Reactionen:

a) Bei der Reduction mit Zinkstaub und Essigsäure entstand eine farblose Lösung, welche nach kurzer Zeit wieder die frühere rothe Farbe annahm.

b) Concentrirte Schwefelsäure rief eine dunkelgrüne Färbung hervor, die auf Zusatz von Wasser durch Blau in Roth überging. (Die gleiche Reaction zeigte auch der Stoff selbst.)

Arsen liess sich in dem mit Safranin gefärbten Futterstoff nach keiner der S. 35 Anmerkung aufgeführten Methoden nachweisen.

Da ich es für möglich hielt, dass die Hauterkrankung durch das mit Safranin gefärbte Futter, welches der Haut dicht anlag, veranlasst sein könnte, habe ich Versuche über Wirkung dieses Farbstoffs auf Hunde angestellt.²

Safranin.

1. Chemisches.

Das Safranin ist ein bereits seit 25 Jahren bekannter Farbstoff, welcher Baumwolle, die mit Tannin und Brechweinstein gebeizt ist, schön roth färbt. Auch auf Seide findet er bisweilen Anwendung. Auf Wolle

¹ Derselbe hatte die für *B. subtilis* charakteristische Form, war beweglich, verflüssigte die Gelatine, bildete leicht Sporen und war nicht pathogen.

² Auf Agar gebrachte Stückchen des mit Safranin gefärbten Futters blieben steril. Das Safranin scheint hiernach stark entwicklungsherumend zu wirken. Da diese Frage im hiesigen Institut von anderer Seite bearbeitet wird, gehe ich auf dieselbe nicht weiter ein.

ist er wenig lichtecht. Die früheren Methoden seiner Darstellung, nämlich: Oxydation des Mauveins, des unreinen Anilins, ferner Erhitzen von Amidoazotoluol $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{N} = \text{N} - \text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2 \end{smallmatrix}$ mit Toluidin-Nitrat scheinen verlassen zu sein.

Nach dem jetzt gebräuchlichen Verfahren, welches von Witt¹ her stammt und durch die scharfsinnigen Untersuchungen von Witt, Nietzki und Bernthsen seine Erklärung gefunden hat, erhitzt man ein Molecül eines Paradiamins mit je einem Molecül zweier gleicher oder ungleicher Monamine. Diese Reaction verläuft in zwei Phasen. Zunächst wirkt das Paradiamin auf das Monamin. Es entsteht ein Indamin.

Dann condensirt sich das Indamin mit einem zweiten Molecül Monamin zu Safranin.

Das Safranin des Handels ist ein Gemisch mehrerer Körper, und zwar hauptsächlich von Phenosafranin und einem methyilirten Phenosafranin (Tolusafranin).

Zur Gewinnung eines reinen Präparates krystallisirt man die Handelswaare so lange um, bis man ein verhältnissmässig schwer lösliches Chlorhydrat von constantem Stickstoffgehalt erhält.

Für meine Versuche standen nun folgende Präparate zur Verfügung:

- Handelswaare von L. Cassella & Co. in Frankfurt a. M.
- Handelswaare der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation zu Berlin.
- Handelswaare von Geigy in Basel.

Die Analysen der Chlorhydrate ergaben die folgenden Werthe:

Berechnet für:		Gefunden:			
Tolusafranin	$\text{HC}_21\text{H}_{21}\text{N}_4\text{Cl}$	I	II	III	IV
N	15.3	12.7	13.8	14.0	12.3

¹ *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* Bd. XII. S. 939 1879. und Bd. XIX. S. 3121. 1886.

Analyse I: Rohproduct von Geigy.

0.2564 trocken bei 105°:

$v = 29^{\text{ccm}}$; $t = 22.5^{\circ}$; $B = 754$.

Analyse II: Präparat von Geigy, 2mal aus verdünnter Salzsäure umkrystallisirt.

0.2480 trocken bei 105°:

$v = 29^{\text{ccm}}$; $t = 13^{\circ}$; $B = 761$.

Analyse III: Präparat von Geigy, 3mal aus verdünnter Salzsäure umkrystallisirt.

0.1995 trocken bei 105°:

$v = 24.1^{\text{ccm}}$; $t = 16.5^{\circ}$; $B = 762$.

Hier wurde besonders lange geglüht.

Analyse IV: Rohproduct von L. Cassella & Co.

0.2550 ^{grm} trocken bei 105°:

$v = 28^{\text{ccm}}$; $t = 23^{\circ}$; $B = 757$.

Alle Präparate waren frei von Arsen, sie enthielten dagegen sehr kleine Mengen von Eisen, Chlor und nur Spuren vom Chrom.

Der Aschengehalt, welcher bei dem für Analyse I benutzten Präparate 4.8 Procent betrug, ist nicht berücksichtigt worden.

Für eine weitere Reinigung der Präparate fehlte es mir an Material. Dieselbe ist aber auch ohne Belang für die Zwecke der vorliegenden Untersuchung, welche sich wesentlich mit der Wirkung der Handelswaare beschäftigt. Uebrigens liegt eine eigentliche Verunreinigung der Präparate überhaupt nicht vor, da es sich, wie bereits früher (S. 38) auseinandergesetzt ist, nur um das gleichzeitige Vorkommen zweier homologer — also nur durch eine oder mehrere CH_2 [Methylen-]Gruppen von einander verschiedener — Safranine handelt.

Die wesentlichen Reactionen des Farbstoffs sind bereits S. 37 erwähnt worden.

Derselbe enthält die chromophore Azingruppe $\begin{array}{c} \diagup \text{N} \diagdown \\ | \\ \text{N} \end{array}$ (Witt), ist aber zugleich eine Ammoniumbase.

2. Thierversuche.

Ueber die Wirkung des Safranins auf Hunde liegen Versuche von Lépine und Cazeneuve vor.²

¹ Siehe die Constitutionsformel S. 38.

² P. Cazeneuve, *La coloration des vins*. Paris 1886. p. 69.

Ein Jagdhund von 12.2 Kilo erhielt 14 Tage lang täglich 0.5 g^{mm} Safranin, darauf 10 Tage lang täglich 2 g^{mm} , schliesslich 10 Tage lang täglich 4 g^{mm} . Er litt an häufigen Diarrhöen, verlor die Fresslust und wog am Ende des Versuchs nur 10.1 Kilo. Dem Thiere wurde die Farbe in Pulverform in den Schlund geschüttet (!).

Ein zweiter Hund von 12 Kilo erhielt vier Monate hindurch täglich 1.2 g^{mm} Safranin mit dem Futter. Er frass sehr wenig. Im vierten Monat wog er nur noch 7.7 Kilo.

Hiernach ist das Safranin bei längerer Darreichung kein gleichgültiger, aber auch kein sehr giftiger Stoff.

Ein Hund, welchem 0.05 g^{mm} Safranin pro Kilo Körpergewicht in's Blut gebracht worden waren, starb am folgenden Tage. Es wurden starke Dyspnoe, Albuminurie und Diarrhöe beobachtet. Bei höherer Dosis (0.1 pro Kilo) trat der Tod schnell ein. Die Section ergab „Herzvergrösserung“ (coeur très volumineux).

Ein Meerschweinchen, dem 0.05 g^{mm} unter die Haut gespritzt worden waren, verstarb nach einigen Stunden.

Auch Poincaré hat, wie Cazeneuve (a. a. O.) mittheilt, das Safranin giftig befunden.

Meine eigenen Versuche beziehen sich fast ausschliesslich auf die Wirkungen des Safranins bei subcutaner Darreichung.

Versuch I: Hund von 6890 g^{mm} . Präparat von Geigy (Basel): Roh-product.

14.—16./XII. Harn alkalisch. Enthält wenig Eiweiss.

17./XII. 2 g^{mm} Safranin per Sonde.

18./XII. Thier munter. 2 g^{mm} per Sonde.

19./XII. Thier munter. 3 g^{mm} Safranin.

20./XII. Harn safraninfarben. Färbung von Seide in dem mit Seife versetzten Harne gut gelungen.

Der Nachweis des Safranins im Harn gelang auf folgende Weise:

1. Entfärbung mit Salzsäure und Zinkstaub: Rothfärbung des Filtrats beim Schütteln mit Luft.

2. Auf Zusatz starker Salzsäure erfolgte blauviolette Färbung, welche beim Verdünnen mit Wasser in Roth überging.

3. Durch concentrirte Schwefelsäure trat Grünfärbung auf.

Dieser Versuch zeigt, dass nach Safranin-Fütterung unverändertes Safranin im Harne erscheint.

Versuch II. Präparat der Actien-Gesellschaft für Anilinfabrikation zu Berlin.

Hündin von 5900 g^{mm} .

3./V. 1888. 1 g^{mm} Safranin in lauem Wasser per Schlundsonde. 2 Std. post injectionem Erbrechen.

4./V. Munter. 1 g^{mm} per Sonde. Harn: roth (Safranin). Neutral, wenig Eiweiss.

5./V. Keine Injection.

6./V. Keine Injection.

7./V. 2 g^{mm} Safranin per Schlundsonde. Normale, rothe Faeces. Thier munter.

8./V. 0.5 g^{mm} Safranin in 25 H_2O subcutan.

9—10./V. Keine Injection.

11./V. 0.5 g^{mm} in 25 H_2O subcutan. Viel Eiweiss. Controlen mit der Farbstofflösung sind gemacht. (HNO_3 , Essigsäure + Ferrocyankalium). Thier apathisch, sehr matt. Kein Appetit, Erbrechen, Diarrhoe. Harn safraninfarben. Wolle sehr gut gefärbt.

12./V. 0.5 g^{mm} subcutan.

13./V. 1^h. Thier sehr matt, mühsam athmend. Keine Injection.

14./V. 10^h. Wird todt gefunden. Bereits kalt und starr.

Section: Alle serösen Häute (Peritoneum, Herzbeutel etc.) safraninroth. Rippenknorpel (nicht Knochen) safraninroth. Alle Drüsenparenchyme ebenso. Lunge zinnoberroth.

In der Niere (Dr. Hausemann) safraninrothe Cylinder. Keine Kernfärbung, auch nicht in Pancreas, nicht in der Lunge.

Knorpel der Trachea safraninroth.

Wenn man die innerlich gegebenen 4 g^{mm} Safranin als unschädlich betrachtet, wozu die oben erwähnten Versuche von Cazeneuve und Lépine berechtigen, so starb das Thier bei subcutaner Darreichung von 1.5 g^{mm} Safraninchlorhydrat, also von 0.25 g^{mm} pro Kilo Körpergewicht.

Versuch III. Präparat der Actien-Gesellschaft für Anilinfabrikation zu Berlin.

Hund von 6990 g^{mm} .

24./V. 1^h. Circa 0.75 g^{mm} in 25 Wasser subcutan.

3^h. Erbrechen.

25./V. 9^h Vormittags. Thier wird todt im Käfig gefunden.

Section: Im Peritonealraum viel seröse Flüssigkeit. Alle Serosae (Peritoneum, Pericardium, Endocardium), Pleurae safraninfarbig. Rippen-

knorpel safraninfarbig. Leber, Milz, Niere weniger stark gefärbt. Knochen, Gehirn nicht gefärbt. Gehirn-Oedem.

Das Thier verstarb in Folge einer einzigen Dosis von 0.112 grm pro Kilo, die ihm subcutan beigebracht worden war.

Versuch IV. Praeparat von Geigy (Basel), dreimal aus Wasser unter Zusatz von Salzsäure umkrystallisirt.

Hund von 2000 grm .

27./VI. 11^{h} . 0.1 grm in 10 Wasser subcutan unter die Rückenhaul (vgl. Section).

$11^{\text{h}} 30'$. Erbrechen.

$1^{\text{h}} 30'$. Anscheinend normal.

7^{h} . Sehr matt.

8^{h} . Tod.

Section: Leichenstarre schon gewichen. Rechte Bauchseite roth und stark ödematös. (Injection unter die Rückenhaul.) Die Rothfärbung und das Oedem überschreiten die Linea alba um 1 bis 2 cm nach links. Alle Serosae (Peritoneum, Pericardium, Endocardium, Pleurae), ferner Leber, Niere (secretorische Theile), Milz safraninroth gefärbt. Gehirn nicht gefärbt. Muskeln kaum gefärbt.

Das Thier verstarb nach einer einzigen Dosis von 0.1 grm , also 0.05 grm pro Kilo im Verlaufe eines Tages.

Versuch V. Praeparat von Geigy (Basel), dreimal aus Wasser und HCl umkrystallisirt.

Hund von 2700 grm .

6 9./XII. Hund munter. Harn normal.

10./XII. 0.05 grm in 5 cem Wasser unter die Rückenhaul. Hat wenig gefressen. Thier sehr matt. Harn safraninroth.

11./XII. 0.05 grm in 5 cem Wasser unter die Rückenhaul. 40° in recto. Hat wenig gefressen. Kein Abscess. Harn safraninroth.

12./XII. 0.075 grm in 7.5 cem Wasser unter die Rückenhaul. Thier sehr ruhig. Hat nichts gefressen. Schläft viel. Geringe Dyspnoe.

13./XII. 11^{h} Vorm. Keine Injection. Thier ganz apathisch, auch durch starke Reize (Klopfen und Berühren mit einem Stabe) schwer zu erwecken.

2^{h} Mittags. Liegt auf der Seite, scheint zu schlafen. Augen geschlossen. Athmet sehr langsam. Liegt bereits seit mehreren Stunden in folgender Lage: Schnauze berührt den Boden, Rücken katzenbuckelartig gekrümmt.

$6^{\text{h}} 30'$ Abends. Lebt noch.

14./XII. Wird todt im Käfig gefunden.

Section (Dr. C. Fränkel): Keine auffallenden Veränderungen an den Injectionsstellen. Unterhautzellgewebe der Bauchseite stark ödematös und safraninroth gefärbt. Im Peritonealraum keine Vermehrung der Flüssigkeit. Alle Serosae safraninroth gefärbt. Leber weich, safraninroth, blutreich. Milz schlaff, safraninroth. Niere: Ueberzug leicht entfernbar; Rinde blass; Mark safraninroth, auf derselben mehrere Ecchymosen. Im Darm keine makroskopischen Veränderungen. Im Pleuraraum wenig Flüssigkeit Lungen blass und aklectatisch.

Das Thier erhielt 0.175^{grm} salzsaures Safranin in drei Dosen im Verlaufe dreier Tage, also pro Kilo 0.065. Diese Dosis war tödtlich.

Die vorstehenden Versuche zeigen, dass Safraninchlorhydrat in einer Dosis von 0.05^{grm} pro Kilo Körpergewicht Hunden unter die Haut gespritzt tödtlich wirkt.

Ueber das Wesen der Safraninvergiftung wage ich keine Vermuthung.

Ob die giftige Wirkung auf die Azingruppe $\begin{matrix} \text{N} \\ | \\ \text{N} \end{matrix}$ oder auf das Vorhandensein der Ammongruppe $\begin{matrix} \diagup & \text{N} & \diagdown \\ & | & \\ \text{Cl} & \text{N} & \text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \end{matrix}$ zurückzuführen sein wird, müssen weitere Versuche entscheiden.

Nachdem festgestellt ist, dass das Futter der Tricottaille mit dem giftigen Safranin gefärbt war, muss die Frage aufgeworfen werden, ob die Hauterkrankung, von welcher die Trägerin jenes Kleidungsstückes befallen wurde, als Safraninvergiftung betrachtet werden darf.

Ich glaube, dass der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme nicht geführt wurde. Höchstens würde ich die Möglichkeit zugeben können, dass es sich in unserem Falle um eine Safraninvergiftung gehandelt habe. Wir wissen zu wenig über die Empfindlichkeit der menschlichen Haut gegen giftige Farben und sind auch durch Thierversuche kaum in der Lage, uns über diesen Punkt Aufklärung zu verschaffen, da dasjenige, was etwa im Versuche über die Reaction der Haut des Versuchthieres sich ergab, nicht einfach auf den Menschen übertragen werden darf. Denn die dicht behaarte Thierhaut ist nicht mit der nackten oder fast nackten Menschenhaut zu identificiren.

Wahrscheinlich reagirt auch die Haut der verschiedenen Individuen auf die gleiche Schädlichkeit in durchaus verschiedenem Grade.